

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН

PONTUS EUXINUS
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ : XI



ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2019

XI Всероссийская научно-практическая конференция для молодых
учёных по проблемам водных экосистем,

посвященная памяти д.б.н., проф. С. Б. Гулина

Материалы конференции

Севастополь, 23–27 сентября 2019 г.

Севастополь
ФИЦ ИнБЮМ

2019

ИЗМЕНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТЕСТ-ОБЪЕКТА

Лазарева А.М.

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, г. Москва

Ключевые слова: водная токсикология, алюминий, Scenedesmus quadricauda

Алюминий широко распространен в природе, он входит в состав многих минералов, всегда содержится в воде и почве. Соединения алюминия попадают в природные воды как естественным путем при вымывании из почвы, с осадками, так и при антропогенном загрязнении. Его соли также используются в качестве коагулянтов в процессах водоподготовки для коммунальных нужд и для осаждения клеток водорослей и цианобактерий, вызывающих цветение воды. Загрязнение поверхностных вод алюминием увеличивается при антропогенном подкислении [1]. Это негативно сказывается на жизнедеятельности растительных и животных организмов [2], и биопродуктивности водоемов. Поэтому возникает необходимость оценки его действия на гидробионтов разных трофических уровней, в частности организмы фитопланктона.

В связи с этим целью настоящей работы являлось изучение действия соли алюминия $AlCl_3$ на культуру зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. методом биотестирования.

Были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать динамику развития тест-объекта *S. quadricauda* в норме и при интоксикации в зависимости от концентрации $AlCl_3$.
3. Сравнить токсичность $AlCl_3$ для *S. quadricauda* при выращивании на природной и искусственной средах.
4. Провести оценку токсичности алюминия в зависимости от начальной плотности культуры и срока добавления его в культуру в процессе ее роста.

Культуру выращивали на среде Успенского №1 в люминостате при освещенности 3,5 клк со сменой дня и ночи (12:12 ч), температуре 22 ± 2 °C.

Развитие этого вида изучали в норме и при добавлении хлорида алюминия на среде Успенского №1 (дистиллированная вода с добавками питательных солей) и озерной воде из региона Южных Хибин (с аналогичными добавками питательных солей).

В первых двух опытах действие $AlCl_3$ на культуру оценивали на среде Успенского №1 при концентрациях 0,1; 0,4; 0,75; 1; 5; 10; 20 мг/л (опыт 1) и природной воде при концентрациях 0,4; 1; 10; 25; 50 и 100 мг/л (опыт 2) в расчете на соль. Опыты проводили в трех повторностях с исходной численностью 35 тыс кл/мл на протяжении 21 суток. Чувствительность культуры к токсиканту оценивали по величине LK_{50} (за 3 суток).

В третьем опыте в течение 21 суток действие $AlCl_3$ в концентрации 50 мг/л на культуру *S. quadricauda* оценивали при начальной плотности популяции 25, 100, 500 тыс. и млн. кл/мл. При этом дозы токсиканта в расчете на одну клетку составляли $20 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-8}$ мг/кл соответственно. Контролем служил рост культуры с такими же начальными значениями численности клеток, но без добавления токсиканта.

При изучении зависимости токсичности от срока добавления $AlCl_3$ в культуру в процессе ее роста добавки токсиканта производили на 0, 7, 14, 21 и 28 сутки. Контролем служил рост культуры без токсиканта с момента его добавки в опытные культуры (5 контролей с разным возрастом культуры). Опыт проводили в трех повторностях общей длительностью 49 суток. На 0, 7, 14, 21 и 28 сутки дозы токсиканта в день постановки эксперимента составляли соответственно 20 и $1.2 \cdot 10^{-7}$, и 2.7, 1.4, $1.2 \cdot 10^{-8}$ мг/кл для 50 мг/л $AlCl_3$ и 40 и $2.8 \cdot 10^{-7}$, и 5.4, 2.8, $2.8 \cdot 10^{-8}$ мг/кл для 100 мг/л.

Основными показателями состояния культуры служили изменение численности клеток (абсолютной и по сравнению с контролем), соотношения живых и мертвых клеток, флуоресценции хлорофилла *a*, а также изменение pH в динамике ее развития в норме и при интоксикации.

Численность клеток подсчитывали в камере Горяева под световым микроскопом. Определение живых и мертвых клеток в культурах осуществляли с помощью люминесцентного микроскопа Axioscop 2 FS Plus. Для измерения pH использовали pH-метр OHAUS Starter 2100. Флуоресценцию хлорофилла *a* регистрировали с помощью флуориметра типа Smart.

Для обработки результатов опытов использовали критерии Стьюдента, Манна-Уитни и Даннета. Оценку токсического действия проводили на основании достоверности различий опытных значений численности клеток по сравнению с контролем.

Полученные данные свидетельствуют о том, что $AlCl_3$ нецелесообразно использовать в качестве альгицидного средства для подавления роста и цветения водорослей, поскольку малые концентрации оказывают стимулирующее действие на их рост. А высокие - альгицидный эффект, вызывая гибель большинства клеток и торможение деления оставшихся живых, за счет которых может происходить восстановление численности популяции.

По результатам опытов можно сделать следующие выводы:

1. Реакция культуры *S. quadricauda* на токсическое воздействие $AlCl_3$ по показателю численности клеток носит фазный характер с чередованием стимуляции и торможения.

2. По данным острого опыта (3 суток) рассчитана полуэффективная концентрация $ЭК_{50}=7,9$ мг Al^{3+} /л. Максимально допустимая для *S. quadricauda* концентрация данного элемента на исследованных средах 0,04 мг Al^{3+} /л. По степени токсичности для *S. quadricauda* $AlCl_3$ относится к среднетоксичным веществам ($ЭК_{50}$ от 10 до 1,0 мг Al^{3+} /л).

3. На природной воде малые концентрации (0,1 и 0,4 мг/л) $AlCl_3$ не оказывают значимого токсического действия на рост культуры. Средние концентрации (1-25 мг/л) вызывают слабое угнетение роста по сравнению с контролем и торможение деления клеток, а затем стимуляцию роста. А высокие (100 мг/л) - массовую гибель клеток и/или длительное торможение деления живых клеток (50 и 100 мг/л), способных со временем восстанавливать численность популяции.

4. Состав среды выращивания культуры влияет на проявление токсичности алюминия. На среде Успенского №1, приготовленной на дистиллированной воде, токсичность алюминия выше по сравнению со средой, приготовленной на природной воде. Присутствие фона дополнительных элементов в природной воде снижает его токсичность вследствие взаимодействия элементов по типу антагонизма.

5. С увеличением начальной плотности популяции от 25 тыс. до 1 млн. кл/мл и с увеличением срока добавления $AlCl_3$ (на 0-28 сутки) в растущую культуру *S. quadricauda* его токсичность падает.

Работа выполнена в рамках Государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова часть 2 (тема № АААА-А16-116021660047-6).

Список литературы

1. Олькова А. С. Сравнение чувствительности тест-организмов *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia affinis* к соединениям алюминия // Успехи современного естествознания. 2015. Вып. 11. С. 203–205.
2. Толпешта И. И. Соединения алюминия в поверхностных водах и почвах различных экосистем южной тайги верхней части бассейна р. Межи // Водные ресурсы. 2012. Т. 39, № 1. С. 99–110.